

講演番号：4C01-06

質疑応答日時、会場：3月18日 09:00～ ミーティングルーム C

Insertion Sequencing 解析により同定されたアミノ酸代謝に関わるビフィズス菌遺伝子の通常飼育マウス腸内における定着と生存への寄与の評価

Evaluation of the contribution of the bifidobacterial genes involved in amino acid metabolism identified by Insertion Sequencing analysis to colonization and survival in the conventional mouse intestine

○井上 太貴、前田 智也、横田 篤、吹谷 智（北大院農）

○Taiki INOUE, Tomoya MAEDA, Atsushi YOKOTA, Satoru FUKIYA (Hokkaido Univ.)

ビフィズス菌はヒトに多くの健康効果を与える腸内細菌であるが、ビフィズス菌の腸内での定着・生存機構には、未だ不明な点が多い。我々はこれまでに、ヒト由来ビフィズス菌 *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* 105-A 株を使用し、トランスポゾン変異株集団を用いた Insertion-Sequencing 解析により、無菌マウス腸内での定着と生存に寄与するビフィズス菌遺伝子を網羅的に同定した。しかしながら、通常ヒトやマウスには腸内細菌叢が存在するため、これらの遺伝子が、腸内細菌叢を持つ通常飼育マウスにおいても定着と生存に重要であるかを評価する必要がある。評価方法として、それぞれの遺伝子欠損株と、異なる薬剤耐性遺伝子を生育に影響のない領域に導入した比較株を作製して通常飼育マウスへ等量投与し、糞便中におけるそれぞれの生菌数を経時的に計測して比較する方法を用いた。昨年度は、網羅的に同定された遺伝子のうち、tight adherence pilus ATPase (*tadA*), cholate efflux transporter (*ctr*), sortaseE (*srtE*) の3遺伝子に着目し、通常飼育マウス腸内での検証を行うことで、*ctr* と *srtE* の腸内における重要性を明らかにした。今年度は、アミノ酸代謝に着目し、diaminopimelate decarboxylase (*lysA*), transcriptional regulator ArgR (*argR*) の2遺伝子について、昨年度と同様に検証を行った。その結果、 $\Delta lysA$ 株と $\Delta argR$ 株の腸内における生菌数は比較株と比べて有意に減少したことから、*lysA* と *argR* は腸内細菌叢存在下での腸内における定着と生存に寄与することが示された。

Bifidobacteria are intestinal bacteria that exert various health-promoting effects on humans, but there is much room for clarification of the mechanisms of intestinal colonization and survival. We previously identified bifidobacterial genes contributing to colonization and survival in germ-free mice by Insertion-Sequencing analysis using transposon mutant library of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* 105-A. However, evaluation of the contribution of those genes is also required in conventional mice harboring gut microbiota. To evaluate each gene contribution, target genes and a control gene were disrupted by inserting different drug-resistance genes. Then, the constructed strains were administrated to conventional mice in equal doses, and the number of viable cells in feces was measured over time. In the last JSBBA conference, evaluation of the genes encoding tight adherence pilus ATPase (*tadA*), cholate efflux transporter (*ctr*), and sortaseE (*srtE*) revealed that *ctr* and *strE* are important genes in the presence of the gut microbiota. In this year, we focused on amino acid metabolism, and diaminopimelate decarboxylase (*lysA*) and transcriptional regulator ArgR (*argR*) genes were evaluated. *lysA* and *argR* were revealed to contribute to the colonization and survival in the presence of the gut microbiota.

Bifidobacteria, intestinal colonization, gene deletion

発表責任者：吹谷智 (s-fukiya@chem.agr.hokudai.ac.jp)